



AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK RUMPUT LAUT *Sargassum cinereum* (J.G. Agardh) DARI PERAIRAN PULAU PANJANG JEPARA TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus epidermidis*

Heru Kurniawan Alamsyah^{*)}, Ita Widowati dan Agus Sabdono

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698
email : Journalmarineresearch@gmail.com

Abstrak

Munculnya sifat resistensi dan infeksi patogenitas bakteri membuat para ilmuwan berupaya untuk menemukan obat baru. Salah satu upaya yang dilakukan adalah pemanfaatan organisme laut sebagai agen antibakteri alami. Beberapa penelitian melaporkan aktivitas biologis *Sargassum* sp. dalam bidang farmakologi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *Sargassum cinereum* terhadap bakteri *E.coli* dan *S. epidermidis* serta mengetahui golongan senyawa dan toksisitas ekstrak *S.cinereum*. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling methods*. Pengeringan sampel dilakukan secara kering angin (*air drying*). Ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan tiga pelarut yang berbeda kepolarannya. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar (Kirby-bauer) konsentrasi 100, 50, 25, 15, 5, 1, 0,5, dan 0,1 µg/disc dengan 3 kali pengulangan. Analisis fitokimia dilakukan secara deskriptif kualitatif berdasarkan perubahan warna serta karakteristik fisika kimia suatu golongan. Uji toksisitas dilakukan menggunakan larva *A. salina* umur 48 jam (instar III/IV). Nilai toksisitas akut (LC50) dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *S. cinereum* pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri terbaik dengan zona hambat $5,08 \pm 0,56$ (bakteri *E. coli*) dan $6,69 \text{ mm} \pm 0,14$ (bakteri *S. epidermidis*) serta memiliki aktivitas bakteriosidal. Hasil analisis fitokimia menunjukkan ekstrak *Sargassum cinereum* mengandung senyawa alkaloid (pelarut etil asetat), steroid (ketiga pelarut), saponin dan tanin (pelarut metanol). Hasil uji toksisitas menunjukkan ekstrak *S.cinereum* pelarut etil asetat memiliki toksisitas yang sangat toksik dengan nilai LC50-24 jam sebesar 24,25 ppm (sangat toksik kategori kronik).

Kata Kunci : *Sargassum cinereum*, Antibakteri, *E.coli*, *S.epidermidis*, Fitokimia, Toksisitas.

Abstract

The emergence of resistance properties and pathogenic bacterial infections make the scientists working to discover new drugs. One of the efforts is the use of marine organisms as a natural antibacterial agent. Several studies have reported biological activity of *Sargassum* sp. in the field of pharmacology. This study was to determine the antibacterial activity of *S. cinereum* extracts against *E. coli* and *S. epidermidis* and to know the toxicity of this class of chemical compounds. Sampling was done by purposive sampling methods. Drying is done used air drying. Extraction is done in stages using three different solvent polarity. Antibacterial activity test was performed using agar diffusion method (Kirby-bauer) concentrations 100, 50, 25, 15, 5, 1, 0,5, dan 0,1 µg/disc in 3 repetitions. Phytochemical analysis conducted qualitative description based on color changes and characteristics of a group chemical physics. Toxicity assay using *A.salina* larvae age of 48 hours (instar III/IV). Acute toxicity values (LC50) was performed using a linear regression equation. The results showed that the extract of *S.cinereum* solvent ethyl acetate has the best antibacterial activity with inhibition zone of 5.08 ± 0.56 (*E. coli*) and $6.69 \pm 0.14 \text{ mm}$ (bacteria *S. epidermidis*) and have bacteriocidal activity . Phytochemical analysis of the results showed that the extract of *S. cinereum* generally contains alkaloid compounds (solvent ethyl acetate), steroids (three solvents), saponins and tannins (methanol solvent). The results of toxicity tests showed *Sargassum cinereum* extracts the solvent ethyl acetate has a very toxic toxicity with 24h-LC50 values of 24.25 ppm (very toxic chronic category).

Keywords : *S.cinereum* , Antibacterial, *E.coli* , *S.epidermidis* , Phytochemistry, toxicity .

^{*)} Penulis Penanggungjawab



PENDAHULUAN

Rumput laut *Sargassum* sp. merupakan salah satu jenis rumput laut yang banyak ditemukan di Indonesia. Keberadaannya dimasyarakat saat ini masih belum mendapat perhatian khusus jika dibandingkan dengan rumput laut komersial seperti *Glacillaria* sp. dan *Eucheuma* sp. (Utami, 2013). Beberapa negara di eropa menyebutkan bahwa *Sargassum* sp. merupakan spesies invasif yang dapat berkembang dengan cepat sehingga dapat bersaing dengan spesies asli serta dapat mengubah komposisi komunitas dan dinamika ekosistem (Tanniou *et al.*, 2013).

Meskipun keberadaan *Sargassum* sp. dianggap mengotori pantai, masyarakat Indonesia khususnya nelayan tradisional memanfaatkannya sebagai pakan ternak, pupuk cair maupun bahan makanan (Nontji, 1993). Seiring berjalannya waktu pemanfaatan *Sargassum* sp. berkembang cukup pesat. Perkembangan tersebut tidak lepas dari senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *Sargassum* sp.. Widowati *et al.* (2013) menyebutkan bahwa *Sargassum* sp. dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan, bahan bakar (*fuels*), kosmetik (cream pelembab), obat-obatan, pigment, serta bahan makanan tambahan (*suplement*).

Beberapa penelitian menyebutkan manfaat senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum* sp. dibidang kesehatan seperti antikanker (Xu *et al.*, 2003), antijamur (Guedes *et al.*, 2012), antivirus (Hardouin *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan Widowati *et al.* (2013) menyebutkan *Sargassum* sp. jenis *S.echinocarpum*, *S.duplicatum* dan *S.polycystum* perairan Jepara mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S.aureus*.

Infeksi dan resistensi bakteri patogen saat ini sedang mendapat perhatian serius diseluruh dunia, mengingat tingginya angka kematian yang terjadi pada populasi manusia (Kandhasamy dan Arunachalam, 2008). Beberapa jenis bakteri yang sering menginfeksi tersebut adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri *E.coli* merupakan jenis bakteri patogen penyebab diare akut yang menyebabkan kematian sebagian besar bayi didunia. Sedangkan bakteri *S.epidermidis* merupakan koloni bakteri yang

menyerang selaput lendir dan kulit manusia (Talaro *et al.*, 2009).

Pencegahan dengan menggunakan bahan alam merupakan alternatif yang dapat dilakukan mengingat badan kesehatan dunia (WHO) telah merekomendasikan penggunaan obat alam guna menangani pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan serta pengobatan penyakit kronis, degeneratif dan kanker (Sari, 2006).

Beberapa penelitian telah melaporkan manfaat *Sargassum* sp dibidang farmakologi salah satunya antibakteri. Oleh karena itu pendekatan yang digunakan dalam mengaplikasikan *Sargassum* sp sebagai obat alam adalah dengan melakukan pengkajian daya hambat ekstrak *Sargassum* sp. terhadap bakteri patogen khususnya yang terdapat pada perairan pulau Pulau Panjang Jepara. Melalui pendekatan berbasis konservasi dan bioteknologi diharapkan dapat memberikan solusi terhadap permasalahan yang terjadi terutama yang berkaitan dengan infeksi dan resistensi bakteri patogen.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *S.cinereum* terhadap bakteri *E.coli* dan *S.epidermidis* serta mengetahui golongan senyawa bioaktif dan toksisitas yang terkandung didalamnya.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2012 sampai Januari 2013. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Sargassum cinereum* yang diambil dari Perairan Pulau Panjang, Jepara. Isolat bakteri uji yang digunakan adalah isolat bakteri *E.coli* dan *S.epidermidis*. Kontrol positif yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah antibiotik kloramfenikol. Kista *Artemia salina* didapat dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *eksperimental laboratoris*. Pengambilan sampel dilakukan dengan *purposive sampling method*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) 3 faktor, yakni faktor bakteri uji 2 taraf (*E.coli* dan *S.epidermidis*), faktor konsentrasi 8 taraf (100, 50, 25, 15, 5, 1, 0,5, dan 0,1 µg/disc) dan faktor pelarut 3 taraf (n-heksana, etil asetat dan metanol) dengan faktor pengelompok bakteri uji.



Uji Pendahuluan (Kualitatif)

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri beberapa sampel basah rumput laut. Uji pendahuluan ini dilakukan menggunakan beberapa genus rumput laut diantaranya *Padina* sp., *Halimeda* sp., *Gracillaria* sp., *Dictyota* sp., *Eucheuma* sp. dan *Sargassum* sp.. Sampel genus tersebut terlebih dahulu dicuci tawar untuk meminimalisir kadar garam. Rumput laut tersebut kemudian ditumbuk menggunakan mortar steril untuk mengeluarkan senyawa aktif yang terdapat dalam jaringan rumput laut tersebut. Rumput laut yang sudah dimortar tersebut kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi bakteri uji selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa antibakteri yang terdapat dalam sampel rumput laut.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan gunting rumput dan cutter pada kedalaman 1,5-2 m. Sampel dipotong \pm 30 m diatar akar rumput laut. Sampel yang didapat kemudian dicuci dengan air tawar serta dimasukkan dalam cool box.

Pengeringan Sampel

Sampel yang telah dicuci tawar tersebut kemudian dipotong kecil-kecil (\pm 0,5 cm). Pengeringan dilakukan menggunakan kering angin (*air drying*) tanpa penyinaran matahari secara langsung untuk menghindari berubah/rusaknya komponen senyawa bioaktif yang terdapat pada sampel (Harborne, 1987).

Penepungan (Powderisasi) Sampel

Sampel yang telah kering angin tersebut dihaluskan dengan *blander* guna memecah dinding sel sampel, sehingga senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel dapat terbawa sempurna.

Ekstraksi Sampel *Sargassum cinereum*

Ekstraksi sampel dilakukan dengan menggunakan ekstraksi padat cair (*solid-liquid*) dengan maserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut non polar (n-heksana), semipolar (etil asetat) dan polar (metanol). Perbandingan pelarut dengan sampel 4:1 (Modifikasi Vijayabaskar *et al.*, 2012). Serbuk rumput laut sebanyak 500 gr dilarutkan dalam 2

L pelarut n-heksana. Maserasi dilakukan selama 1 x 24 jam pada suhu ruang. Hasil maserasi dipisahkan antara filtrat dan residunya dengan cara penyaringan. Residu yang dihasilkan dimaserasi kembali dengan pelarut dan waktu yang sama. Hasilnya dipisahkan kembali antara residu dan filtratnya. Filtrat pertama dan kedua yang didapat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40 °C. Maserasi selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama tetapi menggunakan pelarut yang selanjutnya yakni etil asetat dan metanol.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar (test Kirby-Bauer) pada konsentrasi yang berbeda. Media pertumbuhan bakteri uji yang digunakan adalah ZoBell 2216 E. Sebanyak 100 μ L bakteri uji dengan kepadatan 10^8 diratakan pada media pertumbuhan bakteri selama 1x24 jam. Konsentrasi ekstrak yang digunakan merupakan modifikasi Izzati (2007) yakni 100, 50, 25, 15, 5, 1, 0,5, dan 0,1 μ g/disc. Konsentrasi kontrol positif (kloramfenikol) yang digunakan adalah 100, 50, 25, 15 dan 5 μ g/disc. Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut ekstraksi. Sebanyak 20 μ L ekstrak disetiap konsentrasi diinokulasikan pada kertas cakram yang telah ditumbuhi bakteri uji. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam inkubasi.

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia pada penelitian ini mengacu pada Harborne (1987) dengan golongan senyawa yang diuji antara lain : alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin.

Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 0,05 mg dilarutkan kedalam 10 tetes asam sulfat 2 N kemudian direaksikan menggunakan pereaksi alkaloid seperti Dragendorff dan Meyer. Sampel dinyatakan positif apabila terbentuk endapan merah sampai jingga pada pereaksi Dragendorff dan terbentuk endapan putih kekuningan pada pereaksi Meyer.

Uji Flavonoid

Sampel sebanyak 0,1 g ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit



kemudian disaring. Filtrat yang didapat kemudian kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg, 1 mL HCL pekat dan amil alkohol. Campuran dikocok kuat, sampel dinyatakan positif apabila timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji Triterpenoid/Steroid

Sampel sebanyak 0,05 mg dilarutkan dalam 2 mL kloroform dalam tabung reaksi kering. Tambahkan 10 tetes anhidrida asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Sampel dinyatakan positif mengandung triterpenoid apabila terbentuk larutan warna jingga dan ungu untuk pertama kali yang kemudian mengalami perubahan warna menjadi biru dan hijau jika mengandung steroid.

Uji Saponin

Sampel sebanyak 0,05 mg dilarutkan kedalam 20 mL air panas. Kocok dengan kuat, tambahkan 1 tetes HCL 2N. Sampel dinyatakan positif jika busa masih terbentuk selama 30 menit setelah penetesan HCL 2 N.

Uji Tanin

Sampel tepung sebanyak 0,05 mg dididihkan dalam 20 mL air lalu disaring. Filtrat ditambahkan FeCl_3 1 %, vortex hingga mengalami perubahan warna. Sampel dinyatakan positif apabila mengalami perubahan warna coklat kehijauan atau biru kehitaman.

Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* (BSLT)

Uji toksisitas metode BSLT dilakukan mengacu pada Meyer *et al.* (1982).

Penetasan *Artemia salina*

Sesaat sebelum dilakukan proses penetasan, terlebih dahulu kista *A. salina* direndam dalam air tawar selama 15-30 menit untuk menghilangkan bau kaleng dan membersihkan kotoran yang menempel pada kista *A. salina*. Sebanyak 0,25 gram kista *A. salina* dimasukkan dalam 500 mL air laut dengan suhu penetasan $\pm 25-30^\circ\text{C}$ dan pH 7-8. Selama proses penetasan dilakukan penyinaran menggunakan lampu TL 40 Watt selama 48 jam. Setelah 48 jam kista *A. salina* akan menetas menjadi nauplii instar III/IV serta siap untuk digunakan menjadi hewan uji (Suparno, 2012).

Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan hewan uji dilakukan dengan mengambil 10 ekor larva *A. salina* dengan menggunakan pipet *pasteur* dan dimasukkan dalam tabung *appendorf* yang telah berisi larutan ekstrak *S. cinerum* terbaik pada uji aktivitas antibakteri (etil asetat) dengan konsentrasi uji 1000, 500, 100, 50 dan 10 ppm dengan konsentrasi metanol 2 %. Penggunaan konsentrasi mengacu pada Suryono dan Yudiati (2011). Kontrol negatif yang digunakan adalah metanol konsentrasi 6, 4, 2 dan 1 % dengan tiga kali pengulangan. Pengamatan dilakukan setelah 1, 3, 6, 12, 18, 24 dan 36 jam dengan menggunakan lup. Penentuan selang waktu didasarkan pada konsentrasi lethal suatu zat, apakah bersifat letal akut atau letal kronik. Penentuan nilai LC 50 dilakukan menggunakan persamaan regresi linier yang diolah menggunakan software M.S. Excel 2007.

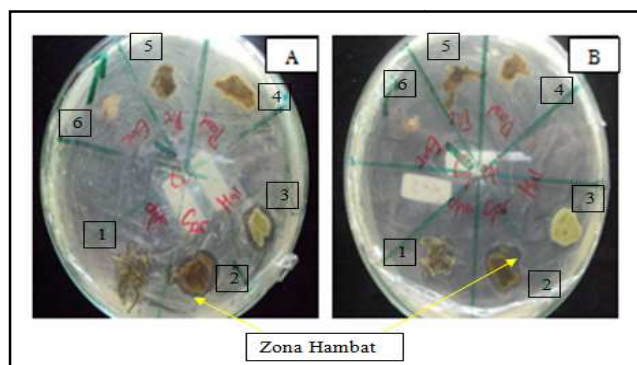
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pendahuluan Beberapa Genus Rumput Laut (Kualitatif)

Hasil uji pendahuluan beberapa genus rumput laut menunjukkan bahwa genus *Halimeda* sp. dan *Sargassum* sp. memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan zona hambat bakteri *S. epidermidis* hanya dimiliki oleh genus *Sargassum* sp.. Hasil uji pendahuluan ditunjukkan pada tabel 1 dan gambar 1 berikut.

Tabel 1. Uji pendahuluan sampel genus rumput laut segar

No	Genus Rumput Laut	Bakteri	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1.	<i>Gracillaria</i> sp.	-	-
2.	<i>Sargassum</i> sp.	+	+
3.	<i>Halimeda</i> sp.	+	-
4.	<i>Padina</i> sp.	-	-
5.	<i>Dictyota</i> sp.	-	-
6.	<i>Eucheuma</i> sp.	-	-

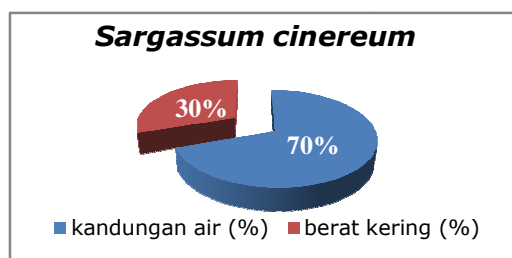


Gambar 1. Uji pendahuluan beberapa genus rumput laut terhadap (A) bakteri *E.coli*, (B) bakteri *S. epidermidis*

Pada uji pendahuluan ini genus *Sargassum* sp. membentuk zona hambat terhadap kedua bakteri uji, hal ini disebabkan adanya senyawa bioaktif yang berperan sebagai antibakteri. Keusgen *et al.* (1997) dan Faulkner (1984) dalam Izzati (2007) menyebutkan bahwa *Sargassum* sp. memproduksi beberapa senyawa metabolisme sekunder seperti florotanin, steroid dan sterol yang diduga berperan sebagai antibakteri.

Pengukuran Berat Basah dan Kering

Hasil pengukuran berat basah dan berat kering sampel didapatkan berat basah 3258 gr dengan berat kering 998,11 gr. Persentase kandungan air yang didapat sebesar 30 % dan berat kering 70 % ditunjukkan pada gambar 2.



Gambar 2. Persentase kandungan air dan berat kering *S.cinereum*

Karakterisasi dan Persentase hasil Rendemen Ekstrak *S.cinereum*

Hasil ekstraksi sampel Rumput laut *Sargassum cinereum* dengan tiga pelarut ditunjukkan pada tabel 2.

Hasil ekstraksi menggunakan tiga pelarut didapatkan tiga pelarut sebanyak 496,95-500 gram/4 liter didapatkan berat ekstrak berkisar antara 0,70 gram hingga 6,85 gram dengan

persentase 0,14 % hingga 1,38. Residu yang didapatkan berkisar 489,65 gram hingga 499,3 gram dengan persentase residu 98,62 % sampai 99,86 %. Ekstrak yang didapatkan memiliki warna coklat kehitaman hingga hitam dengan fase zat berupa pasta.

Tabel 2. Hasil ekstraksi *S. cinereum*

Pelarut	Maserasi	Ekstrak		Residu		Karakteristik Ekstrak	
	(gr/4 liter)	gr	%	gr	%	Fase	Warna
Heksana	500,00	0,70	0,14	499,30	99,86	Pasta	Coklat Hitam
Etil Asetat	499,30	2,35	0,47	496,95	99,53	Pasta	Hitam
Metanol	496,95	6,85	1,38	489,65	98,62	Pasta	Coklat Hitam

Hasil karakterisasi ekstrak dan penghitungan rendemen sampel rumput laut *S. cinereum* menunjukkan bahwa sampel yang diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat memiliki warna yang paling pekat dibandingkan dengan sampel yang diekstrak menggunakan pelarut lainnya. Hal ini diduga jenis senyawa bioaktif serta pigmen yang terdapat dalam sampel rumput laut *S. cinereum* pelarut etil asetat cukup banyak. Nilai rendemen *S. cinereum* yang diekstraksi menggunakan pelarut metanol menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Tingginya nilai rendemen yang dihasilkan berkaitan dengan sifat pelarut metanol yang mampu mengikat senyawa baik non polar maupun polar (Harborne 1987 dalam Trianto *et al.*, 2004).

Uji Aktivitas Antibakteri

a) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

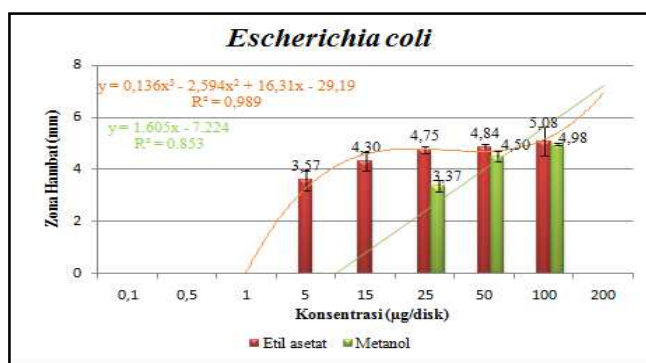
Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *E.coli* disajikan pada tabel 3 serta gambar 3.

Tabel 3. Zona hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *E.coli*

Konsentrasi ($\mu\text{g/disc}$)	Kontrol (+)		Ekstrak <i>Sargassum cinereum</i>							
	Kloramfenikol		Heksana		Etil asetat		Metanol			
	\emptyset (mm)	Aktivitas	\emptyset (mm)	Aktivitas	\emptyset (mm)	Aktivitas	\emptyset (mm)	Aktivitas		
100	0.00	-	7.00	statis	5.08	sidal	4.98	sidal		
50	0.00	-	6.53	statis	4.84	sidal	4.50	sidal		
25	0.00	-	6.30	statis	4.75	sidal	3.37	sidal		
15	0.00	-	4.99	statis	4.30	sidal	5.11	statis		
5	0.00	-	4.40	statis	3.57	sidal	3.28	statis		
1	-	-	-	-	3.80	statis	-	-		
0.5	-	-	-	-	3.63	statis	-	-		
0.1	-	-	-	-	3.25	statis	-	-		



Tabel tersebut menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan mekanisme penghambatan antibakteri secara bakteriosidal, bakteriostatis dan tidak terbentuk zona hambat. Hasil diatas kemudian dilakukan eliminasi data guna mendapatkan nilai *Minimum Bacteriocidal Concentration* (MBC), yakni data yang memiliki aktivitas bakteriostatis dan tidak membentuk zona hambat tidak diikutkan dalam analisis selanjutnya.



Gambar 3. Aktivitas Bakteriosidal ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *E.coli*

Gambar 3 disajikan grafik aktivitas bakteriosidal ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *E.coli*. Aktivitas bakteriosidal terbentuk pada ekstrak yang *S.cinereum* dengan pelarut etil asetat dan metanol. Nilai MBC terbentuk pada pelarut etil asetat dengan konsentrasi 5 µg/disc.

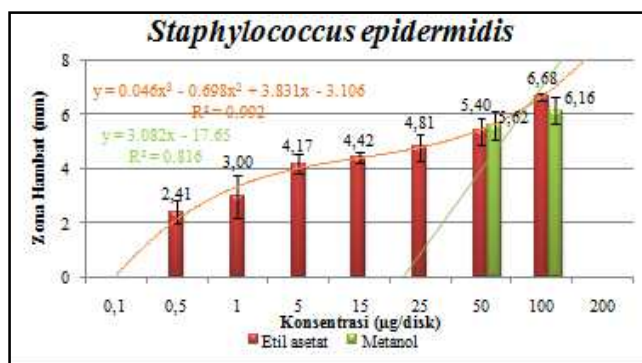
b) Terhadap Bakteri *S.epidermidis*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *S.epidermidis* ditunjukkan pada tabel 4 dan gambar 4.

Tabel 4. Zona hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *S.epidermidis*

Konsentrasi (µg/disc)	Kontrol (+)		Ekstrak <i>Sargassum cinereum</i>					
	Ø (mm)	Aktivitas	Heksana	Ø (mm)	Aktivitas	Etil Asetat	Ø (mm)	Aktivitas
100	0.00	-	7.48	statis	6.69	sidal	6.17	sidal
50	0.00	-	6.96	statis	5.40	sidal	5.62	sidal
25	0.00	-	6.53	statis	4.81	sidal	4.86	statis
15	0.00	-	6.22	statis	4.42	sidal	3.19	statis
5	0.00	-	5.23	statis	4.17	sidal	2.80	statis
1	-	-	-	-	3.00	sidal	-	-
0.5	-	-	-	-	2.41	sidal	-	-
0.1	-	-	-	-	3.39	statis	-	-

Tabel 4 tersebut memberikan informasi aktivitas antibakteri ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *S.epidermidis* memiliki mekanisme penghambatan secara bakteriosidal, bakteriostatis serta tidak terbentuk zona hambat. Ketiga pelarut tersebut memiliki aktivitas antibakteri lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol positif antibiotik kloramfenikol, dimana kloramfenikol tidak membentuk zona hambat.



Gambar 4. Aktivitas Bakteriosidal ekstrak *S.cinereum* terhadap bakteri *S.epidermidis*

Pada grafik diatas aktivitas nilai Minimum Bacteriosidal Concentration (MBC) terbentuk pada konsentrasi 0,5 µg/disc dengan pelarut etil asetat. Grafik diatas juga menunjukkan semakin tinggi konsentrasi uji, zona hambat yang terbentuk semakin besar.

c) General Linier Models (GLM)

Hasil General Linier Model ditunjukkan pada tabel 5 berikut.

Tabel 5. General Linier Model

Source of variations	df	F	p	Tukay $p < 0.05$
Pelarut	2	2414.72	0.00	Hexana ^a < Metanol ^a < Etil asetat ^c
Bakteri	1	59.91	0.00	<i>E. coli</i> ^a < <i>S. epidermidis</i> ^b
Konsentrasi	7	636.47	0.00	0.1 ^a < 0.5 ^b < 1 ^c < 5 ^c < 15 ^c < 25 ^c < 50 ^c < 100 ^c

Hasil general linier models variabel pelarut dengan dua derajat bebas didapatkan pelarut etil asetat memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi dibanding kedua pelarut lainnya serta berbeda secara nyata $p < 0,05$. Pada variabel bakteri dengan satu derajat bebas, didapatkan hasil bahwa bakteri *E.coli* lebih resisten jika dibandingkan *S.epidermidis*



serta berbeda secara nyata $p < 0,05$. Sedangkan untuk variabel konsentrasi dengan tujuh derajat bebas didapatkan nilai zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{disc}$ serta berbeda secara nyata $p < 0,05$.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rumput laut *Sargassum cinereum* yang diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana memiliki aktivitas bakteriostatik, sedangkan yang diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan metanol memiliki aktivitas bakteriostatik maupun bakteriosidal. Menurut Madigan *et al.* (2011), agen bakteriostatik bekerja menghambat sintesis protein dengan cara mengikat sementara ribosom suatu organisme. Ikatan tersebut tidak begitu kuat sehingga ketika konsentrasi dan stabilitas menurun, agen antimikroba akan melepaskan ribosom sehingga bakteri dapat tumbuh kembali. Hal ini berbeda dengan mekanisme agen bakteriosidal yang bekerja dengan mengikat kuat sel-sel target, tidak dilepaskan kembali serta sel-sel mikroorganisme akan dibunuh.

Pelczar dan Chan (2005) dalam Yudha (2008) menyatakan bahwa setiap bakteri memiliki kerentanan yang berbeda terhadap sifat fisik dan kimia yang dimiliki oleh senyawa antibakteri. Selain itu, sifat resistensi terhadap senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh sifat yang dimiliki mikroorganisme itu sendiri. Talaro *et al.* (2009) menambahkan bahwa bakteri *S.epidermidis* termasuk bakteri gram positif yang terdiri atas satu lapisan sedangkan bakteri *E.coli* yang merupakan bakteri gram negatif yang memiliki susunan dinding sel lebih kompleks serta dinding selnya tersusun atas membran luar yang terdiri dari lipopolisakarida dan lipoprotein yang berfungsi sebagai penghalang masuknya desinfektan maupun senyawa antibakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk antara pelarut yang satu dengan lainnya berbeda. Perbedaan zona hambat merefleksikan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak *S.cinereum* pada pelarut yang berbeda. Talaro *et al.* (2009) menambahkan bahwa aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa antibakteri, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etil asetat menunjukkan hasil

terbaik, hal ini diduga etil asetat memiliki sifat hidrofilik dan lipofilik sehingga polaritas menjadi optimum dan zat antimikroba yang diperoleh menjadi maksimal (Harborne, 1987).

Analisis Fitokimia Ekstrak *S.cinereum*

Hasil analisis fitokimia ditunjukkan pada tabel 6 berikut.

Tabel 6. Analisis Fitokimia Ekstrak *S.cinereum*

Uji Fitokimia	Pelarut			Standar (warna)
	Heksana	Etil asetat	Metanol	
Alkaloid				
Dragendorff	-	+	-	Perubahan warna menjadi jingga dan terbentuk endapan
Meyer	-	+	-	Perubahan warna menjadi putih keruh dan terbentuk endapan
Flavonoid	-	-	-	Perubahan warna kekuningan
Steroid	+	+	+	Perubahan warna menjadi hijau/biru
Triterpenoid	-	-	-	Perubahan warna menjadi jingga/ungu
Saponin	-	-	+	Terbentuk busa
Tanin	-	-	+	Perubahan warna menjadi coklat kehijauan atau biru kehitaman

Hasil fitokimia ekstrak *Sargassum cinereum* menunjukkan bahwa senyawa fitokimia yang berhasil dideteksi antara lain alkaloid pada pelarut etil asetat, saponin dan tanin pada pelarut metanol dan steroid pada ketiga pelarut.

Keberadaan senyawa antibakteri pada *S.cinereum* merupakan hasil metabolisme sekunder yang berfungsi sebagai bentuk pertahanan diri terhadap lingkungan yang tidak menyenangkan (sengatan sinar UV), organisme herbivora, organisme fouling, maupun bakteri patogen (Anadhan dan Kumari, 2011)

Robinson (1991) dalam Juliantina *et al.* (2010) menyatakan bahwa kemampuan senyawa alkaloid sebagai antibakteri dilakukan dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel pada bakteri tersebut.

Menurut Cowan (1999) dalam Hardiningtyas (2009), steroid memiliki mekanisme penghambatan bakteri dengan merusak membran sel bakteri dengan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga terjadi kebocoran sel yang diikuti keluarnya material interaseluler.



Hasil analisis senyawa fitokimia saponin menunjukkan hasil positif pada ekstrak *S.cinereum* pelarut metanol. Keberadaan saponin dalam ekstrak metanol karena adanya ikatan glikosida yang kuat sehingga menyebabkan saponin bersifat polar (Harborne, 1987). Ganiswarna (1995) dalam Darsana et al. (2012) menyatakan bahwa saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri, yang menyebabkan komponen penting bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida keluar sehingga bakteri menjadi lisis.

Keberadaan tanin dalam ekstrak *S.cinereum* pelarut metanol dikarenakan tanin termasuk jenis polifenol yang memiliki gugus OH sehingga mudah larut dalam air, pelarut organik maupun campuran keduanya (Susanti, 2000). Ajizah (2004) dalam Juliantina et al. (2010) menyatakan bahwa mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri itu sendiri.

Uji Toksisitas Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Hasil uji toksisitas Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) ditunjukkan pada tabel 7 berikut.

Tabel 7. Penentuan nilai LC 50-24 jam

Waktu	$y = a + b \cdot x$	R^2	R	% korelasi	y	a	b	x	LC 50 (ppm)
1 Jam	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 Jam	$y = 0.013x - 6.666$	1.0	1.000	100.00	50	-6.66	0.013	4358.46	4358.46 Tidak Toksik
6 Jam	$y = 0.018x - 2.131$	0.997	0.998	99.85	50	-2.131	0.018	2896.17	2896.17 Tidak Toksik
12 Jam	$y = 0.019x + 4.837$	0.901	0.949	94.92	50	4.8637	0.019	2375.59	2375.59 Tidak Toksik
18 Jam	$y = 0.030x + 30.66$	0.955	0.977	97.72	50	30.66	0.030	644.67	644.67 Toksik Akut
24 Jam	$y = 0.106x + 47.43$	0.974	0.987	98.69	50	47.43	0.106	24.25	24.25 Sangat Toksik Kronik
30 Jam	$y = 1.166x + 41.66$	1.0	1.000	100.00	50	41.66	1.166	7.15	7.15 Sangat Toksik Kronik
36 Jam	$y = 1.083x + 45.83$	1.0	1.000	100.00	50	45.83	1.083	3.85	3.85 Sangat Toksik Kronik

Hasil pengujian aktivitas antibakteri pelarut terbaik (etil asetat) kemudian dilanjutkan analisis toksisitas menggunakan metode BSLT.

Hasil uji toksistas Ekstrak *S.cinereum* terhadap larva *A.salina* pengamatan 24 jam menunjukkan kematian 50% hewan uji (LC 50) didapatkan pada konsentrasi 24,25 ppm dengan persamaan regresi $y = 0.106 + 47,43$ serta bersifat sangat toksik (kronik).

Penggunaan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) sebagai pengujian aktivitas farmakologi bahan alam didasari oleh studi kelayakan yang dilakukan oleh Carballo et al. (2002) dalam Fajarningsih (2006). Hasil penelitian tersebut menunjukkan terdapat suatu hubungan positif antara uji menggunakan larva udang (BSLT) dengan uji sitotoksik, dimana 50% spesies yang aktif terhadap uji BSLT juga aktif dalam uji sitotoksik. Selain itu, Lieberman (1999) dalam Sonia (2009) menambahkan bahwa metode BSLT memiliki banyak keunggulan antara lain sederhana, sensitivitas tinggi dan reproduktivitas tinggi (24 jam), murah, dan dapat digunakan untuk menentukan intensitas sitotoksik.

Nilai LC50 untuk selang waktu 24 jam sebesar 24,25 ppm termasuk dalam kategori komponen bioaktif yang berpotensi melawan sel kanker, dimana menurut *National Cancer Institute* (NCI) Amerika standar efektifitas komponen bioaktif untuk melawan sel kanker adalah ≤ 30 ppm (Albuntana, 2011).

Penggunaan ekstrak *S.cinereum* pelarut etil asetat berdasarkan hasil terbaik yang didapatkan pada uji aktivitas antibakteri sebelumnya. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Trianto et al. (2004) dimana fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling aktif terhadap larva *A. salina*. Hasil penelitian ini juga diperkuat oleh Purwoko (1998) dalam Trianto et al. (2004) yang menyatakan bahwa ekstrak yang bersifat semi polar ke arah non polar lebih berpotensi dalam menimbulkan sifat toksik terhadap larva *A. salina*. Hal ini disebabkan karena sifatnya yang sukar untuk disekresikan oleh organisme dibandingkan dengan senyawa polar.

Kesimpulan

Ekstrak *S.cinereum* yang diekstraksi dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *S.epidermidis*. Hasil uji aktivitas antibakteri terbaik ditunjukkan oleh *S.cinereum* yang diekstraksi dengan pelarut etil asetat dimana zona hambat yang terbentuk 5,08 mm (*E.coli*) dan 6,69 mm (*S.epidermidis*) serta bersifat bakteriosidal. Secara umum *S.cinereum* mengandung senyawa kimia golongan alkaloid, steroid, saponin dan tanin dengan nilai toksisitas LC 50 (24 jam) sebesar 24,25 ppm (sangat toksik kategori kronik).



Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Dr.Ir. Ita Widowati, DEA dan Prof.Dr.Ir. Agus Sabdono, M.Sc sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan petunjuk dalam menyelesaikan jurnal ilmiah ini serta semua pihak dan instansi yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penulisan jurnal ilmiah ini.

Daftar Pustaka

- Albuntana A., Yasman., Wardhana W. 2011. Uji toksisitas ekstrak empat jenis teripang suku *Holothuriidae* dari Kep. Penjaliran Timur, Kep Seribu, Jakarta menggunakan *brine shrimp lethality test* (BSLT). 72 hal.
- Anandhan, S. dan Kumari S. 2011. Biorestraining potentials of marine macroalgae collected from Rameshwaram, Tamil nadu. 385-392 hal.
- Darsana, I. G. O., I Nengah K., B. Hapsari, M. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. Indonesia Medicus Veterinus 337 – 351 hal.
- Fajarningsih, N.D., H.I. Januar., M.Nursid., and T. Wikanta. 2006. Potensi antitumor ekstrak spons *Crella papilata* asal Taman Nasional Laut Kepulauan Seribu. Pascapanen dan Bioteknologi kelautan dan Perikanan, 1(1):35-41hal.
- Guedes C.A.E., Araujo M.A.d.S., Saoza A.K.P, Saoza L.I.o.D., Barros L.D.d., Maranhao F.C.d.A., Sant'Ana A.E.G. 2012. Antifungal Activities Of Different Extracts Of Marine Macroalgae Against Dermatophytes and Candida Species. Mycopathologia And Candida Species. 223-232 hal.
- Harborne. J. B. 1987. Metode Fitokimia edisi ke-2. Bandung: Institut Teknologi Bandung. 243 hal.
- Hardiningtyas. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton* Sp. Yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi Di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. Institut Pertanian Bogor. 77 hal.
- K. Hardouin, A.S. Burlot, A. Umami, A. Tanniou, V. Stiger-Pouvreau, I. Widowati, G. Bedoux, N. Bourgougnon. 2013. Bioactive antiviral enzymatic hydrolysates from different invasive French seaweeds. [Accepted]. XXist International Seaweed Symposium, 21-26 April 2013, Bali, Indonesia.
- Izzati, M. 2007. Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. BIOMA, 62 – 67hal.
- Juliantina, F., Dewa A.C., Bunga, N., Titis, N., Endrawati, T.B. 2010. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri gram Posistif dan Gram Negatif. hal: 10-25 hal.
- Kandhasamy M., Arunachalam K.D. 2008. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl, DA. Clark, DP. 2011. Brock: Biology of microorganisms (13th ed.). Pearson. 1043 hal.
- Meyer, B.N, Ferrigi, N.R, Putnam, J.E, Jacobsen, L.B. Nicols, D.E. and Mc. Laughlin, J.L. ,1982, Brine Shrimp, A. convenient General Bioassays for Active Plant Constituen, Journal of Medicanal Plant Research (45):31-34.
- Nontji, A. 1993. Laut Nusantara. Penerbit Djambatan. Jakarta. ISBN 979 428 204 11. 367 hal.
- Sari, L.O.R.K. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. [Review]. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol III. No.1. 1-7 hal.



- Sonia, G.A.S., Lipton, A.P., Raj R. Paul., 2009. Lethal concentration of methanol extract of sponges to the brine shrimp, *Artemia salina*. 1-4 hal.
- Suparno. 2012. Kajian Pertumbuhan dan Bioakvitas Antibakteri Spons Laut *Petrosia nigricans* yang ditransplantasikan pada Lingkungan Perairan yang Berbeda. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 393 hal.
- Suryono, dan Yudhiati E. 2011. Toksisitas Ekstrak Metanol *Spirulina* sp. terhadap nauplii *Artemia* sp. Buletin Oseanografi Marina. Volume: 1.hal : 1-6.
- Susanti, C.M.E. 2000. Autokondensat tanin sebagai perekat kayu lamina. Jurusan IPK. Program pasca sarjana IPB. Bogor. [Disertasi]. 69 hal.
- Talaro, K.P., Marjorie K.C., Barry Chees. 2009. Foundations in Microbiology. 7th edition. Publishe by Mc. Graw-Hill. Inc.,1221. Avenue of Americas, New York. ISBN: 978-0-07-128445-5.
- Tanniou A , Vandanjon L , Incera M , Serrano Leon E , Husa V , Engelen A , Le Grand , Walsh R , Poupart N I , Bourgougnon N , Stiger-Pouvreau V , Nicolas J-L. Assessment of the spatial variability of phenolic contents and associated bioactivities of *Sargassum muticum* along a latitudinal gradient. 2013. 21 st International Seaweed Symposium. Seaweed Science for Sustainable Prosperity. [Accepted]. Bali-Indonesia
- Trianto, A, YY Has, Ambariyanto, dan R. Murwani. 2004. Uji Toksisitas EkstraGorgonian *Isis hippuris* Terhadap Nauplius *Artemia salina*. J. Ilmu Kelautan, 9(2): hal : 61-66.
- Utami, D. 2013. Potensi Dari Sampah Laut : Rumput Laut *Sargassum*. [Online]. www.kompas.com. diunduh pada 8 Oktober 2013 pukul: 17.55.
- Vijayabaskar, P. Vaseela. N. Thirumaran G. 2012. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. 0421–0428 hal.
- Widowati I, Susanto A.B, Stiger-Pouvreau V, Bourgougnon N. 2013. Potentiality of using spreading *Sargassum* species from Jepara,Indonesia as an interesting source of antibacterial and antioxidant compounds: a preliminary study. 21 st International Seaweed Symposium. Seaweed Science for Sustainable Prosperity.[Accepted].Bali-Indonesia.
- Xu, N. Fan X, Yan X, Tseng C. K. 2004 Screening marine algae from China for their antitumor activities. Journal of Applied Phycology 16: DOI: 10.1007/s10811-005-5508-5. 451–456p.
- Yudha, A.P. 2008. Senyawa Antibakteri dari mikroalga *Dunaliella sp* pada umur panen yang berbeda. Program studi teknologi hasil perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. 60 hal.